

Nadia Gallenstein

Dr. sc. hum.

## **Pathophysiology of methylglyoxal-associated endothelial damage in experimental sepsis**

Fach/Einrichtung: Anästhesiologie

Doktorvater: Herr Univ.-Prof. Dr. med. Markus A. Weigand

Die therapeutischen Möglichkeiten zur Behandlung der Sepsis/des septischen Schocks sind nach wie vor begrenzt, und die Sterblichkeitsrate ist nach wie vor unannehmbar hoch. Neben autonomen, endokrinen, hämatologischen und immunologischen Veränderungen beim septischen Patienten treten infolge der Entzündung zahlreiche Stoffwechselveränderungen auf, die zur Freisetzung reaktiver Verbindungen wie reaktiver Carbonylspezies führen. Der reaktive Carbonyl-Metabolit und *advanced glycation end-product* Vorläufer Methylglyoxal wurde als früher Biomarker für die Diagnose und Ergebnisvorhersage bei Sepsis identifiziert. Inwieweit Erhöhungen von Methylglyoxal eine Rolle für den Krankheitsverlauf bei Sepsis und septischem Schock spielen, ist noch nicht bekannt. Um eine potenzielle adjuvante Therapie zu testen, die bereits gezeigt hat, dass sie *advanced glycation end-products*, oxidativen Stress und die Glukosehomöostase regulierende Eigenschaften, die mit diabetischen Schäden verbunden sind, reduziert, wurde das histidinreiche Dipeptid Anserin im septischen Kontext eingesetzt. Im Rahmen des hier vorgestellten Ansatzes wurde Methylglyoxal-abgeleiteter Carbonylstress als ein Hauptfaktor für die Störung bzw. den Umbau der endothelialen Barriere bildenden Proteine Claudin 5 und zonula occludens-1 in einem Zellkulturmodell identifiziert, vergleichbar mit entzündlichen Schäden nach Verabreichung von Lipopolysaccharid und Tumor-Nekrosefaktor. Methylglyoxal führt zu einer gestörten Zellintegrität sowie zu einem erhöhten parazellulären Austritt von kleinen und großen Molekülen. Diese Effekte waren nicht von der Matrix-Metalloproteinase-Spaltung der extrazellulären Matrix abhängig. Anserin war in der Lage,

Methylglyoxal-induzierte Schäden *in vitro* zu verhindern und wiederherzustellen und zeigte eine schützende Wirkung auf der Basis der Barriere bildenden Proteine Claudin 5 und zonula occludens-1. In einem In-vivo-Mausmodell der Sepsis akkumulierte sich Anserin 36 Stunden lang stabil in mehreren Organen und zeigte schützende Effekte, indem es die Bildung von Methylglyoxal und *advanced glycation end-products* in der Lunge und in den Nieren verringerte und die Kapillarleckage als auch die Sterblichkeit reduzierte. Darüber hinaus erhöhte Anserin die Überlebenschancen auf 60 % im Vergleich zur Vehikelkontrolle (36,6 %) und verbesserte den klinischen Verlauf der Tiere. Auf immunologischer Ebene führte Methylglyoxal zu einer nicht-apoptotischen und nicht-pyoptotischen Nukleotid-bindenden Oligomerisierungsdomänen-ähnlichen Rezeptor-enthaltenden Pyrin-Domäne 3-Inflammasom-Assemblierung sowie zu einem Anstieg des Interleukin-1beta-Vorläufers und proinflammatorischer Zytokine wie Interleukin-1beta, Interleukin-6 und Interleukin-8 *in vitro*. Methylglyoxal aktivierte weder den Zusammenbau der Untereinheit p65 des nukleären Faktors kappaB, noch den Weg der Proteinkinase B (Akt), sondern aktivierte über verschiedene Wege die mitogen-aktivierten Proteinkinasen c-Jun und p38. Die Aktivierung der c-Jun-N-terminalen Kinase durch Methylglyoxal konnte als rezeptorabhängig für *advanced glycation end-products* identifiziert werden, während die p38-Aktivierung durch Methylglyoxal auch dann bestehen blieb, wenn der Rezeptor *advanced glycation end-products* gehemmt wurde. Die Ergebnisse legen nahe, dass es neben den direkten toxischen Wirkungen von Methylglyoxal einen weiteren Weg gibt, über den Methylglyoxal kausal zur Entwicklung und zum Schweregrad des septischen Schocks beitragen könnte, und zwar über einen Methylglyoxal - *advanced glycation end-product*/Rezeptor für *advanced glycation end-products*/ mitogen-aktivierten Proteinkinasen- Pfadweg, der funktionell zur Aktivierung des Nukleotid-bindenden Oligomerisierungsdomänen-ähnlichen Rezeptor-enthaltenden Pyrin-Domäne 3-Inflammasoms mit anschließender Freisetzung von proinflammatorischen Zytokinen sowie einem Verlust der *tight junctions* führt. Zusammenfassend wurde mithilfe eines translationalen Ansatzes gezeigt, dass Sepsis mit Methylglyoxal-abgeleitetem Carbonylstress assoziiert ist, der sich kausal auf das Ergebnis auswirkt. Darüber hinaus war Anserin in der Lage, die durch Methylglyoxal verursachten Schäden an der Endothelbarriere zu verhindern und wiederherzustellen und das Ergebnis der

experimentellen Sepsis zu verbessern. Daher könnte Anserin eine innovative therapeutische Option für die Behandlung von Sepsis und septischem Schock sein.